



TITLE:

Sulfatideは樹状細胞による α -galactosylceramideの提示を阻害する (Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

金森, 光広

CITATION:

金森, 光広. Sulfatideは樹状細胞による α -galactosylceramideの提示を阻害する. 京都大学, 2015, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2015-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19147>

RIGHT:

京 都 大 学	博士（生命科学）	氏 名	金 森 光 広
論 文 題 目	Sulfatide は樹状細胞による α -galactosylceramide の提示を阻害する		
(論文内容の要旨)			
<p>Sulfatideは中枢神経系のミエリン鞘を構成する主要な糖脂質であるが、それ以外に腎臓、膵臓や腸管にも多く存在し、多発性硬化症やI型糖尿病、癌転移等への関与が示唆されている。CD1d分子はα-galactosylceramide (αGC) を均一なTCRα鎖を発現するインバリエントNKT (iNKT) 細胞に提示して活性化することが知られているが、iNKT細胞以外のNKT細胞 (non-iNKT細胞) の少なくとも一部に対してsulfatideを提示して細胞応答を誘導することが報告されている。さらに、このsulfatide応答性のnon-iNKT細胞がiNKT細胞により誘導される免疫応答を抑制することも示唆されている。</p> <p>しかし、sulfatideがiNKT細胞依存的な生体応答をどのように制御しているのかは明らかではない。また、主要な抗原提示細胞である樹状細胞 (DC) によるiNKT細胞活性化におけるsulfatideの影響もこれまで検討されてきていない。これらを踏まえ、申請者は本研究においてDCを抗原提示細胞としたiNKT細胞による免疫応答に対するsulfatideの抑制作用を解析している。</p> <p>精製した iNKT 細胞と DC をαGC 存在下で培養した際の iNKT 細胞によるサイトカイン産生は、sulfatide を添加することで低下したため、sulfatide は non-iNKT 細胞を介さずに iNKT 細胞の活性化を阻害すると考えられた。しかし、sulfatide は DC によるαGC の取り込みや DC 自身の成熟には影響しなかった。αGC と sulfatide は共に CD1d を介して提示されることが知られているため、sulfatide が αGC の CD1d への結合を競合的に阻害している可能性がある。そこでこの点を検討したところ、αGC 存在下で培養した際の DC の αGC を結合した CD1d (αGC/CD1d) の細胞表面における提示量は sulfatide を添加することで低下することが示された。また、プレートに CD1d-Ig 分子を固層化したところにαGC を添加することで形成されるαGC/CD1d 複合体の量も sulfatide により低下した。このようなαGC/CD1d 複合体形成の阻害は、iNKT 細胞活性化によるサイトカイン産生の低下としても検出された。マウス生体にαGC を投与した際の脾臓 DC 上のαGC/CD1d 複合体量も、αGC と同時に sulfatide を投与した群では低下し、αGC により誘導される血清中の IFN-γや IL-12p70 の濃度も低下した。さらに αGC/CD1d を認識して iNKT 細胞が活性化すると上昇することが知られる CD40L の発現レベルも sulfatide により抑制された。</p> <p>以上の結果から、sulfatideはDCのCD1dを介したαGCの提示を阻害することによりiNKT細胞の活性化を阻害していることが明らかとなった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

invariant TCRを発現するNKT (iNKT) 細胞は抗原提示細胞である樹状細胞上のCD1d分子を介して提示される α -galactosylceramide (α GC) を認識して強く活性化され、IFN- γ を始めとするサイトカインを産生して適応免疫応答だけでなく自然免疫応答においても大きな作用を及ぼすことが知られている。一方、CD1dは種々の脂質を結合して提示することも明らかであり、その中のsulfatideはiNKT細胞以外のnon-invariant TCRを発現するNKT (non-iNKT) 細胞を活性化してiNKT細胞応答を抑制することが報告されている。その抑制作用にはnon-iNKT細胞が産生するサイトカインの作用も示唆されているが、抑制機序についての詳細は明らかではない。そのため、本研究はsulfatideのiNKT細胞応答に対する抑制機構を明らかにするために行われたものである。

先ず、iNKT細胞の α GCに対するIFN- γ 産生は、bulk脾細胞だけでなく精製した樹状細胞とiNKT細胞の培養にsulfatideを添加しても容量依存的に抑制されることを確認している。加えて、IL-2産生もsulfatideにより著しく減少するが、比較的弱い刺激で誘導されるIL-4産生ではその作用は弱いことも示されている。これらの結果から、non-iNKT細胞の関与は完全には否定できないが、それ以外の機構の存在が示された。これを受け、sulfatideの作用を3つの観点から検討している。そのうち、樹状細胞の成熟阻害や細胞内への α GCの取り込みに対して、sulfatideが抑制作用を持たないことを確認した後に、残された可能性である α GCのCD1d分子への結合における競合的阻害効果を樹状細胞表面ならびにcell-free系でのCD1d/ α GC複合体形成を指標に調べている。先ず、樹状細胞上のCD1d分子数はsulfatide添加の影響を受けないが、CD1d/ α GC複合体数はsulfatideの容量依的に大きく減少し、それと呼応して、iNKT細胞のIFN- γ 産生も低下することが明らかにされた。さらに、固相化したCD1d-Ig分子への α GCの結合もsulfatideにより減少し、その結果CD28依存性のiNKT細胞によるIFN- γ 、IL-2産生も低下することも示されている。生体内での作用についても検討されており、sulfatideの投与によりCD1d/ α GC複合体形成が低下し、その結果、iNKT細胞によるIFN- γ 産生だけでなく樹状細胞からのIL-12産生も低下し、この過程には樹状細胞上のCD86やCD40の発現上昇というよりむしろiNKT細胞上のCD40Lの発現上昇の減弱が関与している可能性も示唆されている。しかし、TCR遺伝子導入T細胞を用いた抗原特異的T細胞の活性化に対してはsulfatideの抑制作用は認められていないことから、MHCクラスII分子を介する抗原提示には作用しないことが明らかになった。

したがって本研究は、 α GCによるiNKT細胞活性化におけるsulfatideの阻害作用は、CD1dを介する α GCの提示に対する競合阻害が主要要因であることを論理的かつ明快に実証したものであり、生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見と概念が示されている。

よって、本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。なお、平成27年2月9日、論文内容とそれに関した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日